


# LAPORAN HASIL PENELITIAN HIBAH PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL TAHUN ANGGARAN 2011



Judul : Immunosensor Berbasis Quartz Crystal Microbalance  
Untuk Deteksi Autoimmune Thyroid Diseases :  
Prototype Alat Diagnostik Cepat Sekali Pakai  
(Disposable immunosensor)

Ketua : Dr.-Ing. Setyawan Purnomo Sakti, M.Eng.

Anggota : 1. Prof. Dr. Drh. Aulannilam, DES  
2. Ir. D.J. Djoko Santjojo, M.Phil.Ph.D

Dibiayai Oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Pendidikan  
Nasional sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Dalam Rangka  
Pelaksanaan Hibah Penelitian Strategis Nasional Tahun Anggaran 2011  
Nomor : 343.2/UN10.21/PG/2011, tanggal 20 Juni 2011

**Universitas Brawijaya**  
**Malang**  
**2011**

**HALAMAN PENGESAHAN  
LAPORAN HASIL PENELITIAN  
HIBAH PENELITIAN STRATEGIS NASIONAL**

1. **Judul:** *Immunosensor Berbasis Quartz Crystal Microbalance Untuk Deteksi Autoimmune Thyroid Diseases : Prototype Alat Diagnostik Cepat Sekali Pakai (Disposable immunosensor)*
2. **Ketua Peneliti**
  - a. Nama Lengkap : Dr.-Ing. Setyawan P. Sakti, M. Eng
  - b. Jenis Kelamin : Laki-Laki
  - c. NIP/Gol. : 19650825 199002 1 001/IIID
  - d. Jab. Fungsional : Lektor Kepala
  - e. Jabatan Struktural : Pembantu Dekan I. F.MIPA
  - f. Bidang Keahlian : Sensor dan Instrumentasi
  - g. Fakultas/Jurusan : F.MIPA / Fisika
  - h. Pusat Penelitian : LPPM, Universitas Brawijaya, Malang
  - i. Alamat : F.MIPA, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran, Malang
  - j. Telpon/faks. : 0341 – 554403
  - k. Alamat Rumah : Jl Sudimoro 38 RT 6 RW 7, Malang
  - l. Telpon/Faks/E-mail : 08123314048 / [SetyawanSakti@yahoo.Com](mailto:SetyawanSakti@yahoo.Com)
  - m. Tim Peneliti

Nama	Bidang Keahlian	Fakultas/Jurusan	Perguruan Tinggi
1. Prof. Dr. Aulanni'am, DES	Biokimi	MIPA/Kimia	Univ. Brawijaya
2. Ir. D.J. Djoko Santjojo, Ph.D.	Fisika Bahan	MIPA/Fisika	Univ. Brawijaya

3. **Lokasi Penelitian** : Jurusan Fisika, F.MIPA, Univ. Brawijaya
4. **Pendanaan dan jangka waktu penelitian**
  - a. Jangka waktu penelitian yang diusulkan : 3 tahun
  - b. Laporan ini tahun ke : 2 (dua)
  - c. Biaya Total yang diusulkan : Rp. 268.992.500,-
  - d. Biaya yang disetujui tahun 2011 : Rp. 77.500.000,-

Mengetahui,  
Dekan Fakultas MIPA

Prof. Dr. Marjono, M.Phil  
NIP. 19621116 198803 1 004

Malang, 30 November 2011  
Ketua Peneliti

Dr.-Ing. Setyawan P. Sakti, M.Eng.  
NIP. 19650825 199002 1 001

Menyetujui  
Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat  
Universitas Brawijaya

Prof. Dr. Ir. Siti Chuzaimah, MS  
NIP. 19530514 198002 2 001

## RINGKASAN

Penelitian ini ditujukan untuk pengembangan transducer *Quartz Crystal Microbalance* (QCM) sebagai basis QCM immunsensor dengan kasus untuk deteksi anti-TPO pada penderita *AutoImmune Thyroid Diseases*. Penelitian QCM immunsensor untuk deteksi anti-TPO ini akan memiliki arti penting dalam pengembangan system diagnosis cepat dengan menggunakan prinsip imunologi. Pada sisi lain penelitian akan berkontribusi dalam pengembangan lebih lanjut microbial maupun viral QCM sensor sehingga dapat dikembangkan untuk deteksi dini berbagai penyakit yang disebabkan oleh virus.

Dalam penelitian ini akan dikembangkan perangkat keras dan perangkat lunak berupa sistem instrumentasi untuk QCM immunsensor yang tersusun atas system osilator yang mampu mengendalikan QCM baik pada fas gas maupun cair. Dengan teknik pelapisan tebal yang telah dirintis, akan dilakukan modifikasi permukaan transducer QCM yang dibuat dari kristal resonator biasa. Pada tahun pertama penelitian telah dihasilkan sistem dasar untuk penggunaan QCM immunsensor.

Pada tahun kedua ini telah dilakukan pengembangan teknik pelapisan permukaan sensor. Teknik pelapisan dengan menggunakan polistiren melalui proses spin coating dan air brush telah dilakukan dan menunjukkan hasil permukaan lapisan yang berbeda dari sisi struktur permukaan. Teknik spin coating memberikan hasil pelapisan yang lebih kompak dengan permukaan yang lebih rata. Sedangkan dengan teknik air brush permukaan yang dihasilkan menjadi lebih kasar.

QCM sensor yang telah dilapisi dengan lapisan polimer baik dengan menggunakan spin coating maupun dengan air brush menunjukkan kinerja yang baik pada saat sensor bersentuhan dengan air. Namun demikian diperoleh data yang menunjukkan bahwa penggunaan air brush lebih menimbulkan efek pembebanan pada sensor dibandingkan dengan penggunaan spin coating.

Proses immobilisasi biomolekul dipermukaan lapisan polimer telah dilakukan terhadap lapisan polimer yang menggunakan teknik spin coating maupun dengan air brush. Dari kedua teknik tersebut didapatkan hasil efektifitas immobilisasi yang berbeda. Dengan teknik air brush didapatkan hasil immobilisasi biomolekul yang lebih banyak dibandingkan dengan teknik spin coating. Perlakuan dengan menggunakan modifikasi permukaan melalui penyinaran UV menunjukkan perubahan yang tidak signifikan dalam hasil immobilisasi dibandingkan dengan permukaan yang tanpa disinari dengan UV.

Pengujian atas kinerja QCM immunsensor akan dilakukan dengan pendeteksian anti-TPO yang telah dimurnikan dan selanjutnya diikuti dengan pengujian menggunakan sampel dari penderita AITD. Integrasi system instrumentasi secara lengkap sebagai QCM immunsensor akan dilakukan sebagai hasil akhir berupa prototype system. Publikasi ilmiah pada tarap internasional dan patent diharapkan dapat dihasilkan dari penelitian ini.



## SUMMARY

This research is aimed to develop a Quartz Crystal Microbalance (QCM) as a basis for QCM immunosensor to detect Autoimmune Thyroid Diseases (AITD). It is believed that this research will be an important part for the development of rapid diagnostic system based on immunological reaction, especially for the detection of AITD. Further development of the sensor will also contribute to the early detection of viruses based on microbial or viral QCM sensor.

Hardware and software as an integrated instrumentation system for QCM immunosensor is constructed using oscillator which able to drive the sensor both in liquid as well as in gas phase. Surface modification of the sensor will be done to modify a commercial quartz resonator. In the first year of research fundamental system has been developed.

In the second year of research, coating method for the sensor surface using polystyrene has been developed. The technique is developed based on spin coating and air brush technique. The result shows that surface morphology of the coating from both methods is different. The spin coating method results in a compact and smoother surface compared to the air brush one.

In this experiment, both of the coating methods results in a good performance whether the sensor in contact with air or with water. However, the air brush method results in a slight increase of acoustic loading compared to the spin coating one. This effect is caused by the surface roughness of the coating.

Biomolecule (BSA) immobilization on top of the coated sensor has been done for both coating methods. The result shows that the immobilized biomolecule on top of the coating by air brush method results in a higher immobilization rate compared to the spin coated one. UV treatment on the polystyrene surface doesn't affect the immobilization rate significantly.

Next step of the research will be focused on the working performance of the QCM immunosensor on detecting AITD. A prototype system will be developed in the third year of research. Besides the resulting equipment, scientific publication and patent will be part of the research output.



## PRAKATA

Penelitian ini merupakan penelitian awal (Tahun I) yang dikerjakan sebagai bagian dari penelitian multiyear (3 tahun) untuk pengembangan QCM biosensor. Peneliti mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada semua pihak yang telah ikut berkontribusi dalam pelaksanaan kegiatan penelitian ini. Secara khusus ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada:

- Pemerintah Republik Indonesia, c.q. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, yang telah membiayai penelitian ini sehingga dapat terlaksana
- Rektor Universitas Brawijaya dan Ketua Lembaga Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk dapat melaksanakan penelitian di Universitas Brawijaya dan atas segala dukungan yang diberikan
- Dekan fakultas MIPA, Ketua Jurusan Fisika, dan para ketua Laboratorium terkait yang telah memberikan kekeluasaan bagi peneliti untuk dapat mempergunakan fasilitas yang ada untuk keperluan penelitian ini.

Penulis berharap penelitian ini akan dapat memberikan kontribusi bagi pengembangan keilmuan dan juga memberikan kontribusi bagi pembangunan nasional dan daya saing nasional.

Malang, 30 November 2011

Peneliti

## DAFTAR ISI

Halaman Pengesahan	i
Ringkasan dan Summary	ii
Prakata	iii
I. Pendahuluan	1
II. Tinjauan Pustaka	3
2.1. QCM Sensor	3
2.2. Autoimmune Thyroid Disease	7
2.3. Bovine Serum Albumin	8
III. Tujuan dan Manfaat Penelitian	10
3.1. Tujuan Khusus	10
3.2. Manfaat Penelitian	10
IV. Metode Penelitian	14
V. Hasil dan Pembahasan	17
5.1 Pelapisan polystyrene	17
5.1.1 Pelapisan dengan teknik spin coating	17
5.1.2. Pelapisan dengan teknik air brush	18
5.2. Stabilitas frekuensi sensor setelah dilapisi dengan polystyrene	20
5.3. Analisis mikroskopik permukaan sensor	21
5.4. Hasil immobilisasi BSA pada permukaan sen —	24
5.4.1. Respon dinamik immobilisasi BSA	24
5.4.2 Kurva immobilisasi BSA	26
VI. Kesimpulan dan Saran	30
6.1 Kesimpulan	30
6.2. Saran	30
6.3. Rencana lebih lanjut	31
Daftar Pustaka	32
Lampiran-Lampiran	

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1a. Model kristal kuarsa di udara	5
Gambar 2.1b. Model kristal kuarsa kontak dengan cairan	5
Gambar 2.2. Permukaan resonator kuarsa yang dipergunakan untuk rangkaian osilator pada perangkat elektronik	6
Gambar 2.3. Bovine Serum Albumin (BSA)	9
Gambar 5.1. Hubungan antara perubahan frekuensi sensor dengan konsentrasi polystyrene	18
Gambar 5.2. Konfigurasi sistem air brush	18
Gambar 5.3. Hubungan antara perubahan frekuensi sensor dengan konsentrasi polystyrene dengan teknik air brush	19
Gambar 5.4. Signal keluaran osilator dengan QCM terlapisi polystyrene menggunakan teknik spin-coating	20
Gambar 5.5. Signal keluaran osilator dengan QCM terlapisi polystyrene menggunakan teknik spin-coating	21
Gambar 5.6. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari spin coating untuk pembesaran 500x	22
Gambar 5.7. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari spin coating untuk pembesaran 5000x	22
Gambar 5.8. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari air brush coating untuk pembesaran 500x	23
Gambar 5.9. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari air brush coating untuk pembesaran 5000x	23
Gambar 5.10. Perubahan frekuensi sensor dengan coating polystyrene melalui metode air brush dalam proses immobilisasi BSA	25
Gambar 5.11. Perubahan frekuensi sensor dengan coating polystyrene melalui metode air brush akibat immobilisasi BSA	



- Gambar 5.12. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil spin coating 27
- Gambar 5.13. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil spin coating dan penyinaran UV selama 2 jam 28
- Gambar 5.14. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil air brush 28
- Gambar 5.15. Immobilisasi BSA pada permukaan polystyrene 29



## DAFTAR LAMPIRAN

Photo-Photo Percobaan	32
Sarana Penelitian	35
Tenaga Peneliti	36
Slide Presentasi Seminar Internasional Asiasense2011 – Jeju – Korsel	37



## BAB I PENDAHULUAN

Dari berbagai kasus yang ada, sebagian sangat besar bahan, perangkat elektronik dan sistem diagnosis yang dipergunakan di rumah sakit ataupun dilapangan merupakan barang import. Dari berbagai sistem instrumentasi untuk diagnosis, biosensor merupakan salah satu komponen yang semakin memiliki peran penting dalam proses diagnosis pada masa sekarang terlebih pada masa depan. Negara-negara maju telah melihat hal ini sehingga penelitian dan pengembangan biosensor merupakan salah satu prioritas pengembangan penelitian. Jumlah publikasi internasional menunjukkan hal ini. Dengan demikian penelitian dan pengembangan biosensor memiliki kemanfaatan yang berarti dalam upaya pencapaian kemandirian bangsa dalam pemenuhan perangkat diagnosis,

Dari beragam biosensor yang ada, salah satunya adalah biosensor yang menggunakan teknik pendeteksian perubahan masa per satuan luas, yaitu dengan menggunakan *Quartz Crystal Microbalance* (QCM). QCM biosensor memiliki suatu potensi untuk dikembangkan menjadi salah satu biosensor yang dapat dipergunakan untuk diagnostic cepat untuk berbagai keperluan. Dengan kemampuan untuk dapat memberikan data keluaran kualitatif maupun kuantitatif dan sekaligus kinetika reaksi yang terjadi, maka QCM biosensor memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan. Kemampuan untuk dikembangkan sebagai microbial biosensor ataupun viral biosensor membuka peluang untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai biosensor untuk deteksi cepat berbagai virus. Know how dan penguasaan teknologi QCM untuk biosensor dengan demikian memiliki potensi yang baik untuk kemandirian bangsa dalam pengembangan perangkat diagnosis cepat untuk keperluan medis. Terlebih dengan memperhatikan banyak kasus yang telah terjadi (flu burung, flu babi dan berbagai penyakit lain) yang memerlukan suatu teknik diagnosis cepat.

Dari berbagai biosensor yang dikembangkan, QCM biosensor memiliki daya tarik dalam hal karakteristiknya yang berbeda dengan mekanisme biosensor yang lain (amperometrik, potensiometrik maupun optik). QCM biosensor dapat bekerja untuk mendeteksi reaksi antar molekul tanpa harus memerlukan penanda (marker). Selain dapat bekerja pada fase gas, QCM memiliki kelebihan khususnya



untuk dapat dipergunakan pada media cair (Sakti, 2001). Penelitian ini diajukan sebagai bagian dari rencana panjang pengembangan keahlian dalam pengembangan system diagnosis cepat. Tahapan penelitian dilakukan secara sistematik dari tahapan pengembangan sistem pendukung sampai dengan tahapan pengujian immobilisasi dan diharapkan akan memberikan hasil berupa prototype QCM immunoosensor.



## BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1. QCM sensor

Biosensor merupakan salah satu subyek pengembangan yang sangat menarik jika dilihat dari perkembangan trend penelitian. Hal ini berkaitan dengan target aplikasi biosensor yang sangat luas serta potensi pasar yang menjanjikan. Aplikasi biosensor untuk keperluan diagnostik cepat pada dunia medis menjadi perhatian pengembangan di banyak negara. Hal ini disebabkan oleh karakteristik biosensor dalam hal selektivitasnya. Dari aspek ekonomis hal ini juga didukung oleh pertumbuhan kebutuhan yang semakin tinggi. Data menunjukkan bahwa pangsa pasar biosensor tumbuh pesat sebesar, tahun 2003 senilai 7.3 Milyar Dollar dan tahun 2007 sebesar 10 Milyar Dollar, atau tumbuh dengan laju sekitar 10% per tahun.

Pengembangan biosensor dapat dilihat dari dua aspek penting, yaitu pengembangan *biorecognition layer* dan pengembangan transducer beserta perangkat instrumentasinya. Dari aspek transducer dan aspek fisis yang ditimbulkan, biosensor dapat dikembangkan dengan menggunakan prinsip perubahan sifat kelistrikan (elektrokimia), perubahan panas, perubahan sifat optik, perubahan rapat masa dan mekanisme lain yang mungkin akan berkembang. Sedangkan jika dilihat dari aspek reaksi pada lapisan sensitive (*biorecognition layer*) dan target dapat dikategorikan diantaranya pada sifat reaksinya yang merupakan reaksi langsung dan tidak langsung.

Salah satu teknik biosensor adalah dengan menggunakan transducer Kristal kuarsa (*resonance sensor*). Diantaranya adalah penggunaan quartz crystal microbalance (QCM), surface acoustic wave (SAW), acoustic plate mode (APM) dll.

Penggunaan quartz crystal microbalance (QCM) sebagai perangkat sensitive terhadap perubahan massa adalah untuk sensor deteksi ketebalan lapisan film pada proses deposisi. Efek berkurangnya frekuensi yang disebabkan oleh adanya deposisi massa pertama kali dilaporkan oleh Sauerbrey pada tahun 1957 (Sauerbrey, 1957). Metode ini selanjutnya banyak dipergunakan untuk

deteksi ketebalan film dengan asumsi bahwa film yang dilapiskan bersifat tegar (*rigid*) sehingga ketebalan film dapat dihitung dari pergeseran frekuensi.

Ketergantungan perubahan frekuensi ( $\Delta f$ ) akibat perubahan massa dinyatakan pada persamaan 2.1 berikut:

$$\Delta f = -2 f_0^2 \frac{1}{\sqrt{\rho_q \mu_q}} \frac{\Delta m}{A} \quad (2.1)$$

$\Delta m$  adalah perubahan massa terdepositasi diatas permukaan sensor,  $f_0$  adalah frekuensi awal sensor (*fundamental frequency*),  $A$  luas permukaan elektroda sensor,  $\rho_q$  dan  $\mu_q$  adalah rapat massa dan modulus geser dari kristal kuarsa sebagai bahan pembuat QCM. Karena  $\rho_q$  dan  $\mu_q$  tetap, maka masa yang terdepositasi ( $\Delta m$ ) dapat dihitung melalui pengukuran  $\Delta f$  untuk  $f_0$  dan  $A$  yang diketahui. Ketebalan lapisan metal atau polimer yang bersifat gelas dapat dihirung melalui persamaan  $\Delta m = \rho dA$ , dimana  $d$  ketebalan film dan  $\rho$  adalah rapat masa. Namun demikian ternyata hal ini tidak dapat dipergunakan untuk material yang bersifat elastic (Lucklum, 1997).

Secara mikriskopis dan memperhatikan panjang gelombang dari gelombang akustik yang ditimbulkan oleh QCM pada frekuensi 10MHz, maka ukuran suatu biomolekul, dalam hal ini antigen dan antibody dapat dipandang bersifat tegar. Dengan demikian persamaan (2.1) tetap dapat dipergunakan untuk melakukan perhitungan seberapa banyak deposisi biomolekul diatas permukaan sensor. Berbagai penelitian awal dalam pengembangan immunosensor dengan menggunakan QCM menunjukkan bukti akan hal tersebut (Köbllinger, 1992; Sakti, 1999; Sakti, 2000).

QCM secara tradisional bekerja pada lingkungan fasa gas. Hal ini disebabkan apabila permukaannya dikenai cairan yang juga memiliki viskositas maka sensor akan teredam, sehingga dalam banyak hal osilator tidak dapat lagi bekerja. Dengan menggunakan rangkaian osilator yang baik, meskipun salah satu permukaan dari sensor terpapar pada media cair (air), QCM tetap dapat berosilasi. Dalam hal ini terjadi perubahan frekuensi resonansi yang disebabkan persentuhannya dengan cairan dan diikuti dengan perubahan hambatan resonator (Kanazawa, 1985). Perubahan frekuensi dan hambatan akibat



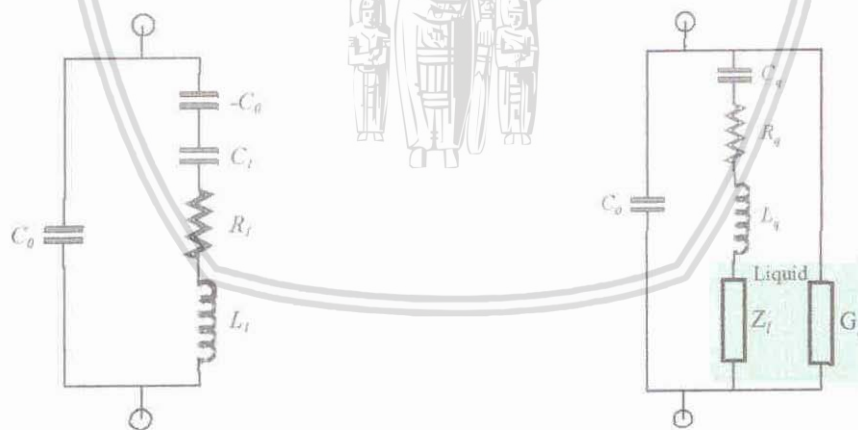
bersentuhan dengan fluida dengan kekentalan  $\eta_l$  dan massa jenis  $\rho_l$  dinyatakan pada persamaan 2.2 dan 2.3.

$$\Delta f = -f_0^{3/2} \sqrt{\frac{\rho_l \eta_l}{\pi \rho_q \mu_q}} \quad (2.2)$$

$$\Delta R = \frac{\pi}{4K^2 C_0} \sqrt{\frac{\rho_l \eta_l}{2\pi f_0 \rho_q \mu_q}} \quad (2.3)$$

dengan  $K^2$  adalah factor penghubung elektromekanik kuarsa,  $C_0$  adalah kapasitansi static kuarsa,  $\rho_q$  massa jenis kuarsa dan  $\mu_q$  adalah koefisien elastisitas kuarsa. Berdasarkan nilai-nilai Kristal, dengan menggunakan Kristal 10MHz maka akan didapatkan sensitivitas teoritis sensor sebesar 6.26 Hz/ng biomolekul per luasan elektroda sebesar 1cm<sup>2</sup>. Sehingga untuk dipergunakan pada molekul-molekul besar seperti antibody sensitivitas ini cukup memadai.

Dengan memperhatikan berbagai aspek yang melingkupinya, QCM sensor dapat dimodelkan seperti pada gambar 2.1a. Sedangkan apabila sensor bersentuhan dengan cairan maka dapat dimodelkan seperti pada gambar 2.1b.



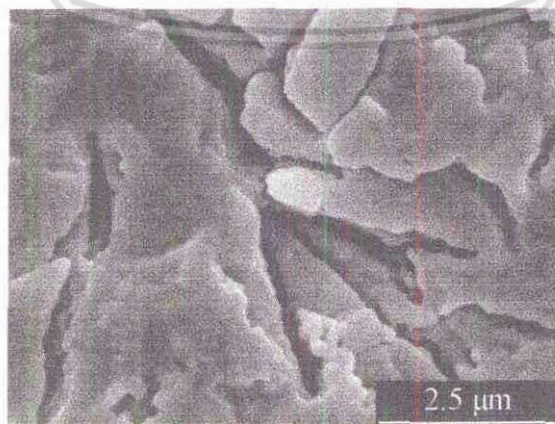
Gambar 2.1a. Model kristal kuarsa di udara      Gambar 2.1b. Model kristal kuarsa kontak dengan cairan

Biosensor, khususnya immunosensor, pada dasarnya bekerja pada fasa cair. Reaksi antara biomolekul target dan sensitive layer (biomolekul) terjadi pada kondisi dalam larutan (cair). Oleh karena itu pada awalnya, perkembangan biosensor dengan menggunakan QCM relative agak lambat dibandingkan dengan teknik lain, misalnya dengan prinsip elektrokimia (potensiometrik atau amperometrik). Pada decade 90'an dengan perkembangan teknik osilator

memungkinkan QCM untuk bekerja pada fasa cair (Kößlinger, 1992). Aplikasi-aplikasi QCM biosensor terus berkembang dengan variasi target molekul yang berbeda-beda (Wu et. al, 2003; Kurosawa, et. al. 2004; Svobodová, et. al. 2006; Liu, et. al. 2007 ).

QCM biosensor yang dikembangkan pada umumnya menggunakan QCM khusus yang dirancang dengan menggunakan emas dikedua elektrodanya. Selain itu permukaan transducer juga dipoles sehingga secara mikroskopik menjadi halus. Penggunaan emas sebagai elektroda ini memiliki keuntungan karena biomolekul dapat terikat pada permukaan emas melalui jembatan sulfide. Upaya penghalusan permukaan dilakukan agar redaman akibat adanya molekul-molekul cairan yang terperangkap pada permukaan yang kasar dari sensor dapat diperkecil. Namun dengan penggunaan elektroda khusus serta proses pemolesan permukaan menyebabkan harga satu komponen transducer menjadi mahal.

Penelitian awal yang dilakukan pengusul (Sakti, 1999), menunjukkan bahwa kristal resonator yang umum dipergunakan sebagai komponen elektronik dalam rangkaian osilator dapat dipergunakan sebagai basis pengembangan immunosensor. Resonator yang umum dipergunakan menggunakan elektroda dari perak dengan kualitas pemotongan yang kurang baik. Hasil scanning electron mikroskop yang dilakukan pengusul menunjukkan hal ini (gambar 2.2). Pada gambar nampak permukaan sensor sangat kasar sehingga dapat mempengaruhi efektifitas immobilisasi serta kinerja sensor di cairan.



Gambar 2.2. Permukaan resonator kuarsa yang dipergunakan untuk rangkaian osilator pada perangkat elektronik

Dari studi awal dengan teknik pelapisan lapisan tebal (puluhan sampai ratusan micron) yang telah dilakukan menunjukkan adanya perbaikan kualitas permukaan sehingga memungkinkan untuk dipergunakan sebagai QCM immunosensor. Namun demikian hal ini perlu dikembangkan lebih lanjut dengan berbagai optimasi, khususnya dalam upaya untuk mencapai efektifitas immobilisasi biomolekul di atas permukaan sensor.

## 2.2. Autoimmune Thyroid Disease

*Thyroid peroxidase (TPO)* merupakan major autoantigen pada *thyroid autoimmune disease*, dimana antibodi yang diproduksi melakukan rekognisi dengan region immunodominant yaitu IDR-A and IDR-B (Marlena *et al.*, 2006). *Autoimmune Thyroid Disease* ditunjukkan dengan adanya destruksi pada kelenjar tiroid yang diikuti dengan terjadinya *hyperthyroidism*. Sebagian besar pasien *thyroid autoimmune disease* adalah positif dengan tingginya titer autoantibody tiroid, terutama *thyroid peroxidase (TPO)* (Guo, J, dkk, 2001). Sampai saat ini menjadi menarik untuk dilakukan penelitian di beberapa pusat penelitian tentang AITD (*Autoimmun Thyroid Disease*), namun sampai saat ini belum tuntas dipahami tentang adanya destruksi sel-sel kelenjar tiroid yang dimediasi oleh TPO. Hal ini yang menjadi menarik untuk dilakukan penelitian ini dimana anti-TPO merupakan satu bertanggung jawab destruksi sel-sel thyrocytes melalui pengikatan complement. Hanya pemeriksaan petanda autoimun terhadap anti-TPO penyakit autoimun ini saja yang bias dipakai untuk mengetahui secara dini.

TPO adalah enzim yang bertanggung jawab dalam biosintesis hormone tyroid oleh glandula tiroid, yang mengkatalisis iodinasi dan coupling residu tyrosine dalam thyroglobulin yang akan menghasilkan sintesis  $T_3$  dan  $T_4$  (Guo, J. dkk, 2001). Human TPO (hTPO) tersusun atas 933 asam amino, yang tersusun atas extracellular region (ectodomain) dengan 848 asam amino, transmembrane domain serta short cytoplasmic region. Ketiga region dalam ectodomain TPO merupakan region dengan homologi sekuen yang tinggi dengan myeloperoxidase (MPO-like domain), complement control protein (CCP-like domain), dan epidermal growth factor (EGF-like domain) (Rebuffat S.A, *et al.*, 2006)

Wahono dan Aulanni'am (2006) telah melakukan eksplorasi profil protein dari kelenjar tiroid sisa operasi, dan didapatkan pita protein dengan berat molekul



100 -110 kDa, yang menurut beberapa reference adalah molekul TPO ( 105 -107 kDa). Namun belum dilanjutkan untuk uji spesifitas dengan immunoblotting maupun pengembangan lain untuk deteksi dini AITD.

Memperhatikan karakteristik dan ukuran dari biomolekul TPO dan anti-TPO (Ferrand, M. et. Al. (2008), menjadi sangat menarik untuk dikembangkan penerapan QCM immunosensor untuk deteksi anti-TPO sebagai indikador adanya penyakit AITD. Dari studi literature yang dilakukan, belum ada publikasi yang melaporkan pengembangan 4GM immunosensor untuk deteksi dini AITD ini. Secara hipotetik dengan menggunakan persamaan kerja QCM pada frekuensi dasar 10MHz, keberadaan anti-TPO dalam orde microgram/milliliter akan dapat terdeteksi dengan QCM. Hal ini dengan memperhatikan ukuran molekul serta kadar konsentrasi ant-TPO pada penderita AITD serta berbagai studi yang pernah dilakukan dengan QCM sensor maka potensi untuk dapat mengembangkan QCM immunosensor untuk deteksi dini AITD sangat menjanjikan.

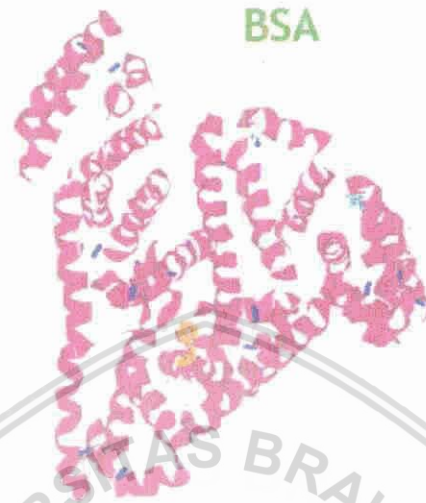
### 23. Bovine Serum Albumin

Bovine serum albumin atau BSA merupakan satu jenis protein yang banyak dipergunakan dalam aplikasi di bidang ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*) sebagai bahan penutup permukaan lapisan matrik (*blocking substance*) dimana struktur BSA dapat dilihat pada Gambar 23. BSA dipergunakan sebagai bahan penutup permukaan karena tidak bereaksi dan tidak mempengaruhi enzim, antibodi maupun antigen.

BSA merupakan protein yang tersusun dari rantai tunggal polipeptid yang tersusun atas 583 asam amino. BSA tidak mengandung karbohidrat. BSA mempunyai berat molekul sebesar 66.776 kDa dan bersifat hidrofobik. Selain itu, BSA juga memiliki stabilitas yang tinggi dan penyediaannya mudah sehingga harganya murah. Pada pH 5-7 BSA memiliki ikatan internal sejumlah 17 ikatan sulfida dan 1 gugus sulphydril. Molekul BSA berbentuk bulat (globular).

BSA mudah larut di dalam air dan hanya dapat terendap dalam larutan garam netral dengan konsentrasi tinggi seperti amonium sulfat. Stabilitas larutan BSA sangat baik. Dengan stabilitasnya yang tinggi, maka BSA dapat disimpan dalam waktu relatif lama dalam bentuk kering maupun dalam larutan buffer (PBS). BSA akan tergumpal apabila dipanaskan, dengan pemanasan di atas 50°C BSA

akan dengan cepat membentuk gumpalan yang bersifat hidrofobik dan tidak akan dapat kembali terurai walaupun didinginkan.



Gambar 2.3 Bovine Serum Albumin (BSA)



## BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

### 3.1. Tujuan Khusus

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengembangkan suatu perangkat dah teknologi deteksi cepat dengan menggunakan QCM Biosensor. Secara khusus dalam penelitian ini akan ditargetkan tujuannya dalam beberapa aspek, yaitu:

- Menghasilkan QCM sebagai transducer utama untuk dapat dipergunakan sebagai basis pengembangan biosensor, khususnya pada reaksi dalam media cair. Mendapatkan teknik pelapisan yang baik untuk melakukan modifikasi permukaan QCM sensor untuk keperluan immobilisasi biomolekul.
- Menghasilkan perangkat akusisi data yang sesuai untuk resonance sensor berupa perangkat osilator dan pencacah frekuensi yang memiliki stabilitas yang baik sehingga dapat untuk mendeteksi perubahan frekuensi yang kecil.
- Menghasilkan teknik pelapisan menggunakan polimer yang sesuai untuk meningkatkan kualitas immobilisasi biomolekul serta untuk mengubah sifat fisis permukaan sensor
- Menghasilkan teknik immobilisasi dengan melakukan modifikasi permukaan lapisan polimer sensor dengan menggunakan bahan-bahan campuran atau melakukan aktivasi permukaan lapisan polimer.

Menghasilkan prototype diagnostik cepat (immunosensor) dengan menggunakan QCM sensor untuk penderita Autoimmune Thyroid Disease (AITD) dengan metode deteksi langsung tanpa menggunakan marker.

### 3.2. Manfaat Penelitian

Pengembangan QCM biosensor merupakan salah satu cara pengembangan deteksi cepat yang dapat memberikan keluaran data yang bersifat kualitatif maupun kuantitatif. Secara kualitatif misalnya dengan menetapkan ambang nilai deteksi untuk menyatakan suatu kondisi ada atau tidak

adanya suatu target molekul. Secara kuantitatif dapat dipergunakan untuk mengukur konsentrasi molekul pada cairan target.

Aspek lain yang merupakan kelebihan dan QCM dan perangkat yang akan dikembangkan adalah potensi untuk dapat mengamati kinetika reaksi antara molekul yang dipergunakan sebagai sensitive layer dan molekul target. Laju reaksi dapat diamati secara *real time*. Perubahan frekuensi osilator akibat terjadinya ikatan antara sensitive layer dan molekul target akan dapat diamati secara grafis yang merepresentasikan laju reaksi. Hal ini berbeda dengan teknik-teknik yang menggunakan metode dot blot maupun ELISA yang tidak memungkinkan dilakukan pengamatan secara *realtime*. Pengukuran laju reaksi ini akan bermanfaat untuk studi-studi yang berkaitan dengan pengembangan dan pemilihan biomolekul yang efektif baik untuk keperluan diagnostik maupun pengobatan.

Penelitian ini juga memiliki arti penting dalam pengembangan keahlian. Dalam *roadmap* pengembangan jangka panjang untuk membangun keahlian dalam pengembangan sistem diagnosis cepat, khususnya dengan biosensor, penelitian ini akan berkontribusi dalam mempercepat penguasaan teknologi biosensor, khususnya QCM biosensor.

Keutamaan yang lain adalah penelitian ini akan memberikan dampak positif dalam pengembangan biosensor, khususnya immunosensor, untuk berbagai macam target molekul yang berbeda tanpa menggunakan marker (misalnya marker optik atau magnetik). Dengan kemampuannya untuk mendeteksi suatu reaksi yang bersifat langsung, juga akan memberikan keuntungan dalam hal kesederhanaan metode deteksi. Tidak diperlukan mekanisme-mekanisme reaksi redoks tambahan yang merupakan keharusan pada teknik yang didasarkan pada prinsip elektrokimia, atau penambahan marker.

Selain teknik pendeteksian dengan perubahan massa akibat reaksi antara molekul target dan lapisan sensitive biomolekul, pengembangan lebih lanjut untuk mendeteksi moda perubahan berupa perubahan viskositas cairan akibat reaksi juga akan dapat dikembangkan dikemudian hari. Semisal untuk pendeteksian



keberadaan endotoxin ataupun cemaran lain yang dapat dideteksi melalui perubahan viskositas.

Secara khusus berkaitan dengan penggunaan antibody-TPO (Thyroid Peroxidase) sebagai sampel prototype pengembangan akan memiliki keunggulan dalam hal pengembangan metode deteksi penderita AITD. Dengan ukuran molekul antibody-TPO yang cukup besar serta konsentrasinya yang cukup memadai (microgram/ml), memberikan suatu kemungkinan yang besar untuk dapat dideteksi keberadaannya dengan menggunakan QCM biosensor dengan lapisan sensitive Mab-h-TPO. Penelitian yang dilakukan Sakti (2000) menunjukkan potensi pengembangan QCM biosensor yang cukup baik untuk jenis immunosensor dengan QCM.

Keberhasilan penelitian pengembangan QCM biosensor ini juga akan membuka kemungkinan yang lebih luas dalam pengembangan biosensor khususnya immunosensor. Selain kemungkinan dikembangkannya kit diagnostic cepat yang dapat memberikan informasi secara kuantitatif, pengembangan QCM biosensor ini juga membuka peluang bagi pengembangan peralatan yang memungkinkan dilakukannya pengukuran kinetika reaksi dari berbagai pasangan antigen-antibody maupun molekul lain. Studi tentang cross reactivity, selectivity, dan sensitivitas reaksi antar molekul akan dapat dilakukan. Ketergantungan pada berbagai peralatan import dengan harga ratusan sampai milyaran rupiah juga akan dapat dikurangi.

Penelitian ini diharapkan juga memberi kontribusi dalam upaya penanganan insiden penyakit autoimun kelenjar tiroid (AITD) yang semakin lama semakin meningkat, sehingga merupakan masalah yang cukup serius di Indonesia. Angka prevalensi AITD pada wanita hamil dan pasca melahirkan di Indonesia yang tinggi (5.9%) memberikan alasan yang cukup memadai untuk dilakukannya penelitian dan pengembangan biosensor deteksi dini AITD sebagai model QCM biosensor.

Pentingnya diadakan diagnosa dini pasien AITD pada fase pre-disease adalah untuk mengetahui progresivitas ke arah timbulnya destruksi sel penyusun kelenjar tiroid dan melakukan tindakan pencegahan. Hanya pemeriksaan petanda autoimun kerusakan kelenjar tiroid yang dapat mengetahui secara dini

sebelum terjadi progresivitas kerusakan kelenjar tiroid. Karena harga untuk pemeriksaan menggunakan reagen import amat mahal dan kurang spesifik untuk kasus AITD di Indonesia, maka pemeriksaan anti-TPO tidak dapat dilakukan secara rutin di sebagian besar atau bahkan di semua laboratorium di Indonesia. Oleh sebab itu produksi reagen Mab-human autoantibodi-TPO<sub>ind</sub> di Indonesia mungkin dapat mengurangi biaya dan meningkatkan kualitas pelayanan kasus AITD di Indonesia.

Sejak diketahuinya TPO sebagai major antigen dari proses autoimun pada penderita AITD di dalam kelenjar tiroid, maka menjadi sangat relevan untuk dikembangkan suatu reagen prediksi AITD berdasar keberadaan autoantibodi-TPO. Keberadaan TPO autoantibodies sangat berkaitan dengan thyroid lymphocytes sebagai sumber TPO autoantibodies (McLachlan., 1979). Autoantibodi TPO ini ditemukan pada serum dengan konsentrasi mikrogram sampai miligram per mililiter serum. Sedangkan autoantibodi Pn yang ditemui pada pasien AITD seperti thyroid-stimulating antibodies, TSH receptor-binding inhibitory immunoglobulins, dan antithyroglobulin antibodies konsentrasinya sangat kecil dibandingkan dengan autoantibodi TPO, yaitu konsentrasi ditemukan nanogram tiap milliliter serum (Jaume et al., 1997).

Secara akademik penelitian ini juga memiliki arti penting dalam upaya peningkatan karya publikasi internasional yang dihasilkan oleh peneliti Indonesia. Immunosensor sebagai salah satu isu-isu pengembangan dunia memberikan kemungkinan potensi publikasi yang tinggi. Sehingga dari penelitian ini diharapkan akan diperoleh publikasi internasional dalam tema QCM immunosensor untuk penderita AITD serta kemungkinan diajukannya paten untuk deteksi cepat AITD dengan menggunakan QCM immunosensor berikut dengan prototype-nya.

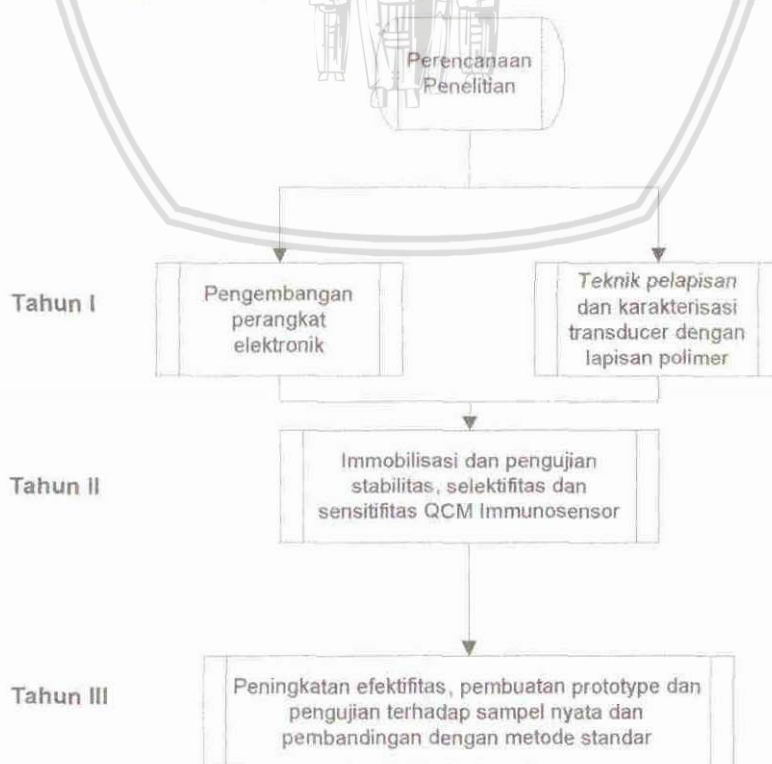
## BAB IV. METODE PENELITIAN

Penelitian ini direncanakan dilaksanakan dalam waktu 3 tahun rancangan umum penelitian dengan pentahapan meliputi:

- Tahun I, pengembangan perangkat elektronik osilator dan pencacah frekuensi dan karakterisasi sifat-sifat elektrik dan fisis transducer
- Tahun II, pengembangan efektifitas immobilisasi biomolekul sebagai sensitive layer dengan pengujian stabilitas
- Tahun III, optimasi immobilisasi dan reaktivitas QCM immunosensor terhadap target molekul dari sampel dan pembuatan prototype system instrumentasi untuk deteksi AITD

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental di laboratorium dengan melibatkan Laboratorium Instrumentasi dan Laboratorium Material di Jurusan Fisika Universitas Brawijaya, Laboratorium Biokimia di Jurusan Kimia serta kerjasama dengan pihak ketiga dari Fakultas Kedokteran dalam penyediaan sampel.

Secara garis besar diagram alir pekerjaan penelitian adalah sebagai berikut:



## Metodologi Penelitian Tahun II:

Diagram alir:



### **Pengumpulan data dan analisis:**

- Pelapisan polystyrene pada permukaan sensor dilakukan dengan menggunakan teknik spin coating dan teknik air brush. Perubahan konsentrasi larutan polystyrene dan variabel lain dilakukan untuk mencari kondisi pelapisan yang baik.
- Pengujian stabilitas sensor dilakukan dengan mengukur perubahan frekuensi serta respon sensor ketika permukaan sensor dengan lapisan polystyrene mengalami kontak dengan air (PBS).
- Analisis struktur permukaan dilakukan dengan menggunakan mikroskop untuk melihat morfologi permukaan lapisan polystyrene hasil pelapisan dengan spin coating dan air brush.



- Efektifitas immobilisasi dilakukan dengan melakukan proses immobilisasi BSA dengan berbagai konsentrasi

**Luaran penelitian:**

- 'Sensor dengan lapisan polystyrene yang dapat dipergunakan untuk QCM immunosensor. Data hubungan antara kondisi pelapisan dengan perubahan frekuensi sensor.
- QCM sensor dengan lapisan polimer yang siap dipergunakan sebagai bahan dasar QCM immunosensor



## BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN

### 5.1 Pelapisan Polystyrene

Pelapisan polystyrene dilakukan dengan menggunakan teknik spin coating dan dengan menggunakan teknik air brush. Kedua teknik ini dipergunakan dengan pemikiran bahwa hasil permukaan dari kedua teknik pelapisan ini akan menghasilkan morfologi permukaan yang berbeda.

#### 5.1.1. Pelapisan dengan teknik spin coating

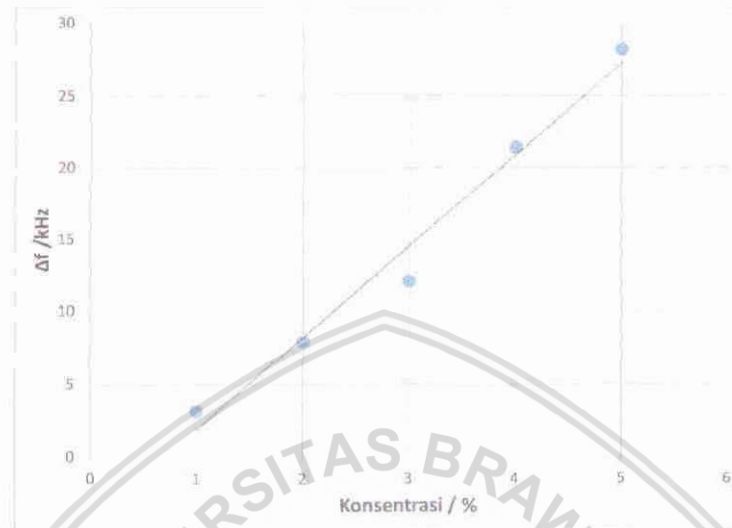
Teknik spin coating dilakukan dengan menggunakan pemutar yang dapat diatur kecepatannya. Diketahui bahwa ketebalan lapisan polimer yang dilapiskan pada permukaan sensor dengan menggunakan teknik spin coating akan ditentukan oleh kecepatan putar dan konsentrasi dari larutan polimer, serta kecepatan penguapan pelarut. Untuk keperluan ini pelarut chloroform dipergunakan karena memiliki sifat penguapan yang cepat. Dalam teknik pelapisan ini pelarut tidak diubah, sehingga ketebalan lapisan akan ditentukan hanya oleh kecepatan putar dan konsentrasi polimer dalam larutan.

Sebelum dilakukan pelapisan, polystyrene dilarutkan dalam chloroform. Beberapa konsentrasi kloroform telah disiapkan untuk perlakuan pelapisan. Variasi konsentrasi disiapkan antara 1% sampai dengan 5%. Konsentrasi polystyrene dalam kloroform adalah persentase massa polystyrene yang dilarutkan terhadap massa kloroform yang dipergunakan untuk melarutkan. Agar pelarutan berjalan dengan baik, maka dilakukan pengadukan dengan menggunakan ultrasonic.

Dalam pengukuran ini frekuensi dicatat sebelum dan sesudah dilapisi dengan polystyrene. Hasil pengukuran dari perubahan frekuensi sensor akibat perbedaan konsentrasi polystyrene pada coating dengan teknik spin coating ini dapat dilihat pada grafik Gambar 5.1. Pada grafik ini kecepatan putar spin coating dibuat konstan, variasi dilakukan hanya pada konsentrasi polystyrene.

Dari grafik dapat dilihat bahwa penambahan konsentrasi polystyrene berakibat pada peningkatan perubahan frekuensi. Hal ini berarti bahwa ketebalan lapisan polystyrene pada permukaan sensor berhubungan dengan konsentrasi polystyrene. Dengan konsentrasi yang makin tinggi maka lapisan polystyrene pada

apermukaan sensor semakin tebal. Hubungan antara konsentrasi dan ketebalan lapisan dapat dilihat merupakan suatu hubungan linier.



Gambar 5.1. Hubungan antara perubahan frekuensi sensor dengan konsentrasi polystyrene

#### 5.1.2. Pelapisan dengan teknik air brush

Teknik air brush dilakukan dengan menggunakan konfigurasi seperti tampak pada gambar 5.2. Untuk keperluan penyemprotan, sebuah kompresor dengan tekanan yang dapat diatur dipergunakan dengan diatur pada tekanan konstan. Regulator tekanan diatur untuk mendapatkan tekanan yang optimum untuk kondisi penyemprotan.

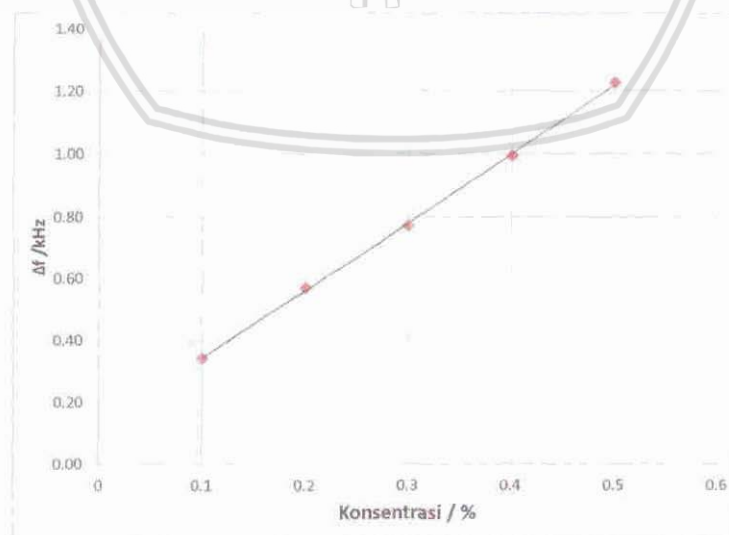


Gambar 5.2. Konfigurasi sistem air brush

Sebelum dilakukan pelapisan, polystyrene dilarutkan dalam chloroform. Penggunaan kloroform ini, meskipun diketahui belum optimal untuk digunakan dalam teknik air brush, namun masih dapat dipergunakan dengan dilakukan penyesuaian kondisi pelapisan dengan teknik semprot.

Untuk teknik air brush ini, ketebalan lapisan dipengaruhi oleh kekuatan kompresor untuk menyembrot, jarak semprot, waktu penyemprotan dan konsentrasi polystyrene dalam kloroform. Dengan banyaknya variable yang dapat diatur ini maka perlakuan menjadi sangat beragam. Namun karena bukan menjadi focus dalam penelitian ini, maka dalam proses pelapisan yang dilakukan variable yang diubah hanya variable konsentrasi. Variabel-variabel lain dibuat tetap dan diambil pada kondisi optimum setelah dilakukan proses percobaan awal.

Grafik pada gambar 5.3 menunjukkan grafik hubungan perubahan frekuensi sensor setelah dilakukan proses pelapisan dengan air brush. Dapat dilihat pada grafik bahwa ketebalan lapisan yang didapat dengan air brush lebih tipis dibandingkan dengan teknik spin coating. Hal ini dilakukan untuk menghindari efek redaman yang berlebihan akibat pelapisan. Langkah ini diambil karena pada saat proses pelapisan dengan air brush didapatkan untuk pelapisan yang tebal, sensor tidak lagi dapat beresonansi.



Gambar 5.3. Hubungan antara perubahan frekuensi sensor dengan konsentrasi polystyrene dengan teknik air brush

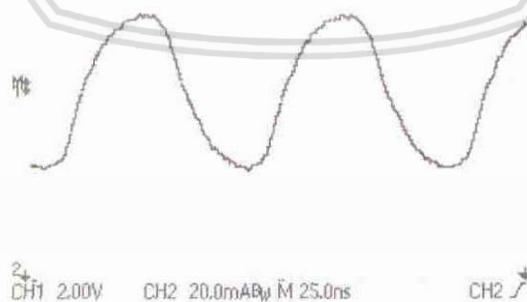


Dari grafik 5.3. juga dapat dilihat bahwa dengan jarak, waktu dan tekanan semprot yang sama, ketebalan lapisan dipengaruhi oleh konsentrasi polystyrene dalam hubungan yang linier. Semakin tinggi konsentrasi polystyrene, diperoleh ketebalan lapisan yang semakin tebal diindikasikan dengan adanya perubahan frekuensi yang semakin besar.

## 5.2. Stabilitas frekuensi sensor setelah dilapisi dengan polystyrene

Osilasi sensor setelah dilapisi dengan polystyrene perlu diuji untuk mengetahui apakah sensor nantinya dapat dipergunakan untuk basis sebagai QCM immunosensor pada fase cair atau tidak. Pengujian dilakukan dengan mengukur besarnya signal keluaran dari osilator pada saat sensor telah dilapisi.

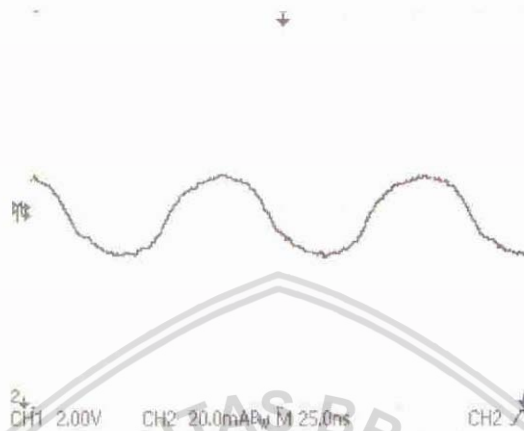
Dari pengukuran yang dilakukan dengan menggunakan osiloskop, didapatkan tegangan puncak ke puncak keluaran osilator setelah dipasang dengan sensor tanpa coating adalah 6Volt (Vpp). Setelah dilapisi dengan menggunakan polystyrene melalui teknik spin coating didapatkan tegangan puncak ke puncak yang diperoleh sebesar 6Volt (Gambar 5.4). Dari hasil ini didapatkan informasi bahwa dengan pelapisan spin coating tidak menimbulkan efek pembebanan pada sensor.



Gambar 5.4. Signal keluaran osilator dengan QCM terlapisi polystyrene menggunakan teknik spin-coating

Dengan respon ini maka sensor yang dilapisi polystyrene dengan teknik *spin coating* akan dapat dipergunakan sebagai bahan dasar QCM immunosensor tanpa menimbulkan permasalahan karena pembebanan. Konsistensi hasil pelapisan yang berdampak pada keluaran tegangan osilator yang juga menghasilkan tegangan puncak ke

puncak keluaran yang stabil menunjukkan teknik pelapisan spin coating untuk bahan polimer untuk keperluan QCM sensor merupakan salah satu teknik yang memadai untuk dipergunakan.



Gambar 5.5. Signal keluaran osilator dengan QCM terlapis polystyrene menggunakan teknik spin-coating

Agak berbeda dengan hasil yang diperoleh melalui spin coating, teknik pelapisan menggunakan metode air brush menunjukkan adanya efek pembebanan pada sensor. Hal ini ditunjukkan dengan penurunan amplitudo puncak ke puncak dari keluaran osilator (Gambar 5.5). Keluaran osilator yang dihubungkan dengan QCM sensor yang dilapisi polystyrene dengan menggunakan teknik air brush menunjukkan keluaran tegangan pada kisaran 4Volt. Bahkan pada lapisan yang lebih tebal mengakibatkan  $n$  tidak lagi berosilasi karena adanya pembebanan pada sensor. Dari respon keluaran tegangan yang diperoleh untuk rentang ketebalan seperti hasil gambar 5.3, menunjukkan bahwa system air brush dapat dipergunakan untuk melapisi QCM sensor sebagai dasar untuk pengembangan QCM Immunosensor.

### 5.3. Analisis mikroskopik permukaan sensor

Untuk mengetahui lebih jauh struktur permukaan lapisan polystyren pada permukaan sensor, foto mikroskop dengan menggunakan mikroskop elektron telah dilakukan. Dengan foto mikroskop elektron ini diharapkan dapat diketahui morfologi permukaan lapisan polystyren yang diperoleh dari proses spin coating dan proses pelapisan menggunakan teknik air brush.

Gambar 5.6 dan 5.7 menunjukkan hasil foto mikroskop elektron atas permukaan sensor dengan lapisan polystyrene yang diperoleh dengan

menggunakan metode spin coating. Sedangkan Gambar 5.8 dan 5.9 adalah permukaan sensor dengan lapisan polystyrene menggunakan teknik air brush.

Pada pembesaran 500x, morfologi permukaan sensor yang diperoleh dengan metode spin coating dan metode air brush tidak menunjukkan penampakan yang berbeda. Dari gambar diperoleh sebaran polystyrene yang merata baik yang diperoleh melalui metode spin coating maupun metode air brush. Permukaan sensor terlapisi dengan merata.



Gambar 5.6. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari spin coating untuk pembesaran 500x



Gambar 5.7. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari spin coating untuk pembesaran 5000x

Namun demikian pada pembesaran 5000x, terlihat perbedaan yang signifikan antara permukaan sensor yang diperoleh dengan teknik spin coating



dan teknik air brush. Pada permukaan sensor yang diperoleh melalui teknik spin coating dapat dilihat bahwa permukaan sensor merupakan lapisan yang kompak dan padat. Permukaan sensor nampak rata dan membentuk lapisan yang nampak menyatu. Beberapa lobang tipis memanjang nampak pada permukaan sensor, hal ini kemungkinan terjadi karena pada saat proses penguapan kloroform, lapisan film yang terbentuk mengalami gaya tarik keluar akibatnya gaya sentrifugal, sehingga bisa jadi ada ikatan-ikatan yang putus.



Gambar 5.8. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari air brush coating untuk pembesaran 500x



Gambar 5.9. Foto mikroskop elektron permukaan polystyrene dari air brush coating untuk pembesaran 5000x

Permukaan sensor yang diperoleh dengan teknik air brush menunjukkan permukaan yang lebih kasar. Pada permukaan sensor nampak bahwa lapisan



yang terjadi seakan-akan merupakan lapisan yang saling menumpuk. Pada permukaan sensor nampak adanya cekungan dan rongga-rongga antar polystyren. Cekungan dan rongga-rongga ini disebabkan karena pembentukan lapisan polystyren merupakan pembentukan dari partikel-partikel polystyrene yang menumpuk pada saat proses penyemprotan. Pada mana partikel polystyrene yang menempel lebih dahulu telah mulai mengering pada saat partikel lain mulai menempel, sehingga partikel yang satu dengan yang lain tidak cukup menyatu.

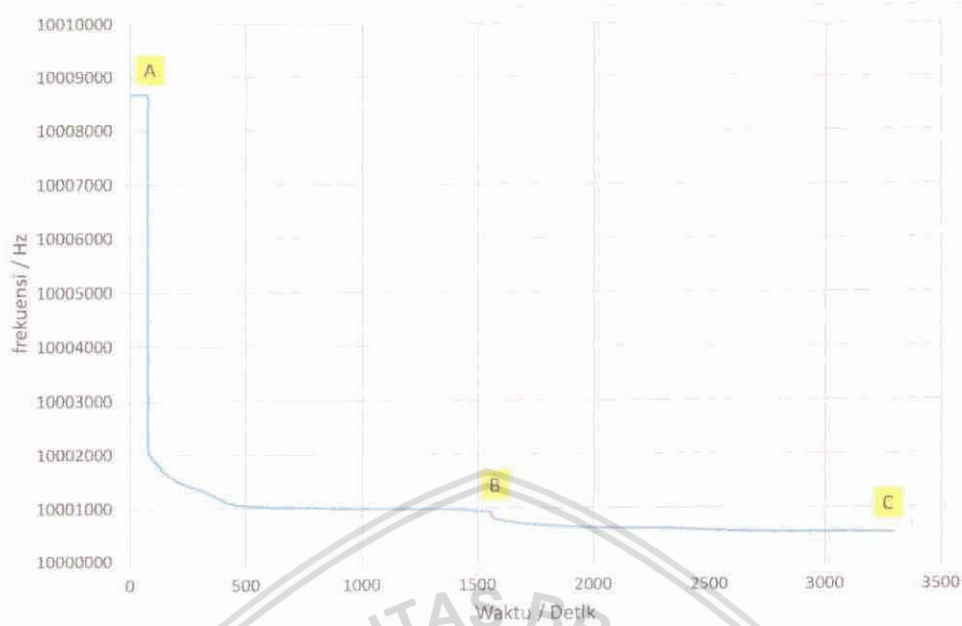
Penurunan tegangan puncak ke puncak dari sensor yang terlapis polystyren melalui teknik air brush menunjukkan bahwa ada efek pembebanan tambahan pada sensor. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh mulai adanya sifat viskoelastik pada lapisan polystyrene disebabkan oleh kerenggangan ikatan antar partikel penyusun lapisan.

#### 5.4. Hasil immobilisasi BSA pada permukaan sensor

##### 5.4.1. Respon dinamik immobilisasi BSA

Dalam percobaan yang dilakukan proses immobilisasi BSA pada permukaan sensor dapat diamati secara real time dengan menggunakan QCM sensor yang telah disiapkan dengan lapisan polystyren. Dalam pengamatan respon dinamik proses immobilisasi BSA ini dilakukan langkah-langkah sebagai berikut:

- Sensor disiapkan pada sel reaksi yang terbuat dari bahan teflon dengan O-Ring terbuat dari bahan silikon
- Frekuensi sensor diamati dengan menggunakan pencacah frekuensi yang dihubungkan dengan program pencatat
- Frekuensi sensor mulai direkam dikomputer pada saat sensor masih bersentuhan dengan udara
- Larutan PBS sejumlah 70uL ditetaskan keatas permukaan sensor dnegan memasukkannya ke sel reaksi
- Setelah frekuensi sensor tercatat stabil maka sejumlah 30uL larutan BSA dalam PBS ditambahkan pada larutan PBS di dalam sel
- Frekuensi sensor di catat selama proses berlangsung



Gambar 5.10. Perubahan frekuensi sensor dengan coating polystyrene melalui metode air brush dalam proses immobilisasi BSA

Gambar 5.10 menunjukkan satu runtutan proses pencatatan frekuensi pada sistem ketika terjadi immobilisasi pada permukaan sensor. Pada saat awal, sensor berada pada frekuensi osilasi yang stabil pada saat permukaan bersentuhan dengan udara. Pada titik A, PBS dimasukkan ke dalam sel sensor sehingga permukaan sensor mengalami persentuhan dengan PBS yang (air). Frekuensi sensor berubah secara drastis turun sebesar 6500Hz akibat adanya beban fluida (air).

Selanjutnya, karena adanya permukaan-permukaan sensor yang kasar serta adanya cekungan dan rongga pada permukaan polystyrene, perlahan-lahan air masuk ke dalam rongga dan menimbulkan perubahan frekuensi yang perlahan-lahan menuju titik kesetimbangan baru pada titik B. Terdapat penurunan frekuensi tambahan sebesar 1KHz akan terperangkapnya air dalam cekungan dan rongga lapisan polystyrene.

Pada saat dicapai kesetimbangan baru ini (titik B), BSA dalam larutan PBS ditambahkan dalam larutan PBS. Pada grafik mulai nampak adanya perubahan frekuensi menurun akibat mulai terjadinya immobilisasi BSA pada permukaan sensor. Lahan-lahan mencapai kondisi kesetimbangan baru sampai frekuensi osilasi menjadi stabil karena tidak ada lagi penambahan BSA yang menempel pada permukaan sensor (titik C). Perubahan frekuensi ini merupakan perubahan

frekuensi yang disebabkan oleh adanya penambahan masa pada permukaan sensor akibat proses immobilisasi BSA.



Gambar 5.11. Perubahan frekuensi sensor dengan coating polystyrene melalui metode air brush akibat immobilisasi BSA

Gambar 5.11. menunjukkan perubahan frekuensi sensor selama proses immobilisasi BSA pada permukaan sensor. Pada gambar dapat dilihat bagaimana proses immobilisasi BSA (sampel biomolekul) memerlukan waktu sekitar 800 detik (15 menit) untuk mencapai kondisi maksimum immobilisasi. Data perubahan frekuensi maksimum dari kondisi awal frekuensi stabil ketika sensor berada dalam kontak dengan BSA inilah yang diambil sebagai perubahan frekuensi immobilisasi BSA pada kurva immobilisasi.

#### 5.4.2. Kurva immobilisasi BSA

Kurva immobilisasi BSA diambil dari data perubahan frekuensi yang terjadi pada saat proses immobilisasi BSA. Perubahan frekuensi sensor adalah perubahan frekuensi setelah immobilisasi mencapai kondisi maksimum yang ditunjukkan tidak adanya lagi perubahan frekuensi sensor. Besarnya perubahan frekuensi maksimum akibat proses immobilisasi dicatat sesuai dengan konsentrasi BSA yang diberikan.

Gambar 5.12 sampai 5.14 menunjukkan perubahan frekuensi sensor akibat proses immobilisasi dengan konsentrasi BSA yang berbeda-beda. Sebagai



catatan, konsentrasi BSA pada sumbu x adalah konsentrasi BSA sejumlah 30 $\mu$ L yang ditambahkan pada PBS sejumlah 70 $\mu$ L. Sehingga konsentrasi akhir adalah 1/3 dari konsentrasi yang diberikan.

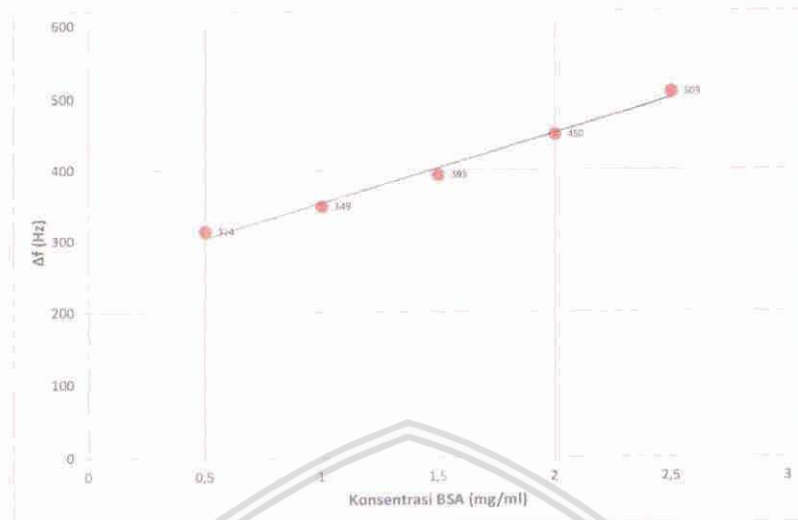


Gambar 5.12. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil spin coating

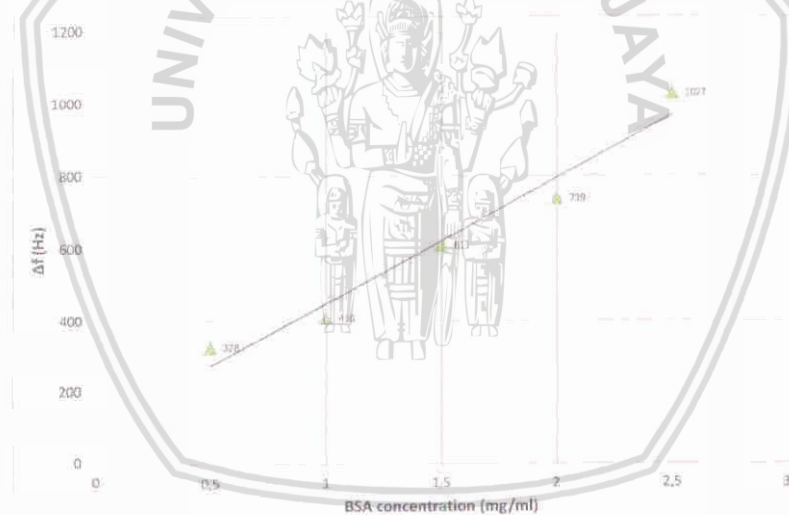
Gambar 5.12 menunjukkan perubahan frekuensi sensor yang telah dilapisi dengan polystyrene menggunakan teknik spin coating. Pada gambar dapat dilihat bahwa semakin banyak konsentrasi BSA yang diberikan maka frekuensi maksimum BSA yang terimmobilisasi juga semakin besar. Ini menunjukkan bahwa terjadi kesetimbangan antara konsentrasi BSA dalam larutan PBS dan jumlah BSA yang terimmobilisasi pada permukaan sensor. Hasil yang sama juga ditunjukkan pada sensor dengan lapisan polystyrene dengan teknik pelapisan yang berbeda (Gambar 5.13 dan 5.14).

Jika dibandingkan antara jumlah BSA yang ditunjukkan dengan perubahan frekuensi, pada sensor dengan permukaan polystyrene melalui teknik spin coating dan perlakuan penyinaran UV selama 2 jam setelah pelapisan, tidak ada suatu perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa perubahan permukaan menjadi lebih hidrofilik pada polystyrene dengan penyinaran UV tidak mempengaruhi tingkat immobilisasi BSA pada permukaan polystyrene. Perubahan signifikan dapat dilihat terjadi pada sensor dengan lapisan yang diperoleh melalui pelapisan menggunakan metode air brush (Gambar 5.14). Dari perubahan frekuensi yang terjadi, dapat dilihat bahwa jumlah BSA yang terimmobilisasi menunjukkan hasil hampir 2 kali lipat pada konsentrasi BSA yang tinggi, namun tidak terlalu banyak pada konsentrasi BSA yang rendah.



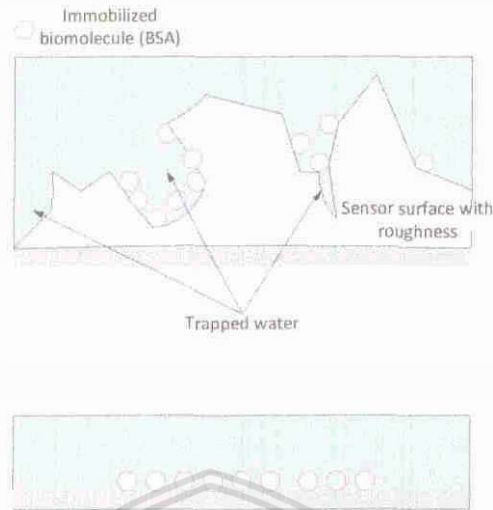


Gambar 5.13. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil spin coating dan penyinaran UV selama 2 jam



Gambar 5.14. Perubahan frekuensi sensor akibat immobilisasi BSA terhadap konsentrasi BSA pada sensor dengan permukaan hasil air brush

Penambahan jumlah BSA yang terimmobilisasi pada permukaan sensor yang diperoleh melalui pelapisan dengan air brush diperkirakan dikarenakan oleh adanya BSA yang terimmobilisasi pada orientasi vertikal sehingga jumlah masa per satuan luas dari BSA yang terimmobilisasi menjadi semakin banyak. Secara figuratif diperkirakan terjadi immobilisasi BSA pada permukaan polystyrene seperti pada gambar 5.15.



Gambar 5.15. Immobilisasi BSA pada permukaan polystyrene

Pada Gambar 5.15 bagian atas, permukaan polystyrene kasar dengan cekungan dan rongga di peroleh pada proses pelapisan dengan air brush, sedangkan gambar bagian bawah menunjukkan suatu permukaan yang rata. Berdasarkan persamaan Saurbrey (Bab 2), maka perubahan frekuensi sebanding dengan perubahan masa per satuan luas. Sehingga dengan memperhatikan gambar 5.15 dapat dilihat untuk permukaan dengan cekungan yang tajam dan berongga, maka jumlah BSA yang terimmobilisasi per satuan luas pada arah vertikal akan berlipat dibandingkan dengan BSA yang terimmobilisasi pada permukaan yang rata (Gambar 5.15 bawah). Dengan demikian dapat difahami bahwa molekul BSA yang terimmobilisasi akan semakin banyak dan berakibat pada perubahan frekuensi yang semakin besar. Asumsi ini tentu saja hanya akan berlaku apabila cekungan dan rongga yang ada memiliki ukuran yang lebih besar dari ukuran BSA (biomolekul) yang terimmobilisasi.

Namun demikian aspek lain berupa cairan yang terperangkap dalam rongga maupun dalam cekungan perlu mendapatkan perhatian karena akan dapat menimbulkan efek pembebanan pada sensor. Pada kasus dimana cekungan dan rongga terlalu kasar maka akan dapat menyebabkan beban yang besar sehingga sensor tidak lagi beresonansi.

## BAB VI. KESIMPULAN DAN SARAN

### 6.1. Kesimpulan

Dari pelaksanaan kegiatan penelitian yang dilakukan telah didapatkan hasil-hasil sebagai berikut:

- Telah berhasil dilakukan pengembangan system pelapisan dengan menggunakan polystyrene melalui teknik *spin coating* dan teknik *air brush*
- Unjuk kerja QCM sensor dengan lapisan polystyrene menggunakan teknik *spin coating* dan *air brush* menunjukkan keluaran osilasi yang stabil untuk dipergunakan sebagai basis untuk QCM immunosensor.
- Immobilisasi BSA pada permukaan polystyrene memerlukan waktu yang singkat untuk mencapai kondisi maksimum immobilisasi
- Permukaan polimer hasil *air brush* memberikan hasil immobilisasi BSA yang lebih baik dibandingkan dengan menggunakan teknik *spin coating*

### 5.2. Saran

- Perlu dilakukan perbaikan pada struktur kompartemen (sel) reaksi untuk dapat menghasilkan keluaran sensor yang stabil

### 5.2. Rencana kerja

- Melakukan pengembangan perbaikan sel reaksi
- Melakukan pengujian immobilisasi antigen/antibody di permukaan sensor
- Melakukan pengujian kinerja biosensor yang dikembangkan untuk mendeteksi AITD

## DAFTAR PUSTAKA

1. I. Mannelli, M. Minunni, S. Tombelli, M. Mancini (2003), " QCM affinity biosensor for genetically modified organism detection", *Sensors and Actuators B*, 18
2. H. Xia, et all (2008), "Detection of *Staphylococcus epidermidis* by a Quartz Crystal Microbalance Nucleic Acid Biosensor Array Using Au Nanoparticle Signal Amplification", *Sensors*
3. A. Sellborn, M. Anderson, C. fant, C. Gretzer, H. Elwig (2003), "Methods for research on immune complement activation on modified sensor surface", *Colloids and Surface B : Bioinformatics*, 27
4. A. Arnau (2008), "A Review of Interface Electronic Systems for AT-cut Quartz Crystal Microbalance Applications in Liquids", *Sensors*
5. J. Yang (2006), *Analysis of Piezoelectric Devices*, World Scientific
6. J. Schroeder, R. Borngräber, F. Eichelbaum, P. Hauptmann (2002), 'Advanced interface electronics and method for QCM', *Sensors and Actuators A*, 97-98
7. M.A. Lombardi, T.P. Heavner, S.R. Jefferts (2007). "NIST Primary Frequency Standards and the Realization of the SI Second. *Journal of Measurement Science*
8. D.B. Sullivan (2001), "Time and frequency measurement at NIST: the first 100 years", 2001 IEEE International Frequency Control Symposium and PDA Exhibition
9. Oscilloquartz (2009), "Oven Controlled Crystal Oscillator", Technical Specification
10. K. Parnell & N. Mehta (2002), *Programmable Logic Design Quick Start Hand Book*, Xilinx
11. J. F. Main (2006) " Frequency Counter 7Seg TMR1", [www.best.microcontroller-projects.com](http://www.best.microcontroller-projects.com) (akses 30 Juli 2010)

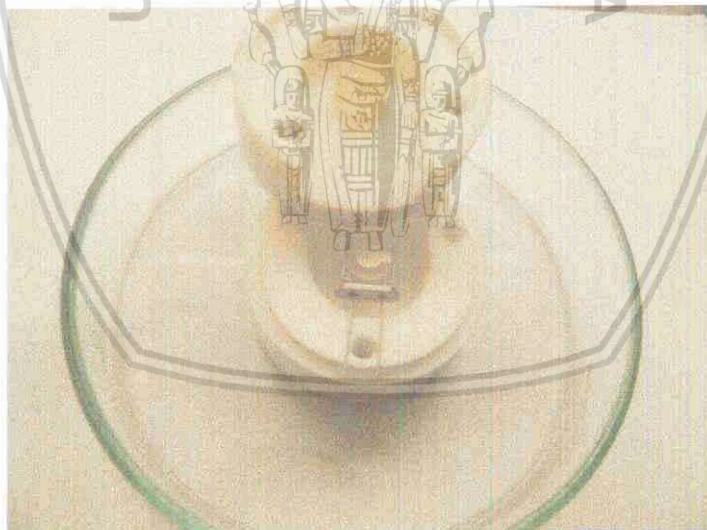


## LAMPIRAN-LAMPIRAN

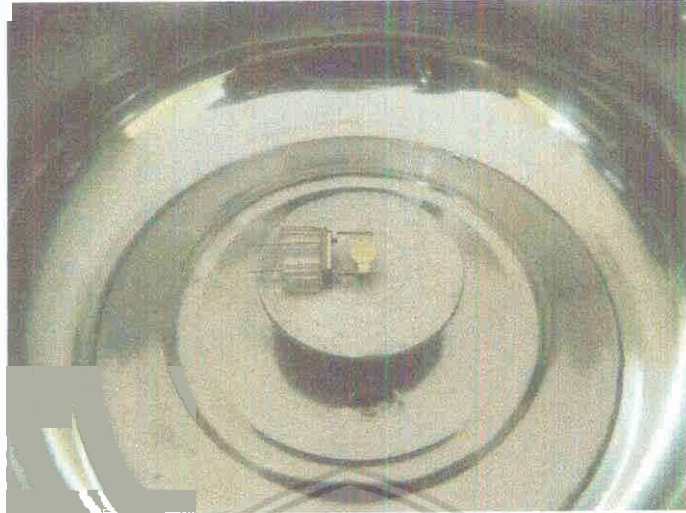
### Lampiran 1. Photo-photo percobaan



Gambar L.1. Sensor setelah dilapisi



Gambar L.2. Sensor dengan sel reaksi dan O-ring



Gambar L.3. Sensor dalam chamber untuk spin coating



Gambar L.4. Sensor dalam putaran spin coating



Gambar L.5. Chamber air brush



Gambar L.6. Sistem air brush untuk pelapisan QCM





## SARANA PENELITIAN

### Laboratorium :

- Laboratorium Instrumentasi dan Pengukuran, Jurusan Fisika Univ. Brawijaya
- Laboratorium Material, Jurusan Fisika, Univ. Brawijaya
- Laboratorium Biokimia, Jurusan Kimia, Univ. Brawijaya

### Peralatan Utama:

- Network, Impedance and Spectrum Analyser, Hewlett-Packart (2008): Perangkat ini dipergunakan untuk melakukan pengukuran spectrum impedance dan frekuensi dan resonator kristal sehingga dapat diketahui perilaku elektriknya. Range frekuensi yang dapat di scan adalah DC – 500MHz. Lokasi di Laboratorium Instrumentasi dan Pengukuran Jurusan Fisika.
- Constant temperature bath controller, Julabo (2008): Perangkat dipergunakan untuk mengatur suhu konstan pada tabung/ruang percobaan ukuran kecil. Ini dipergunakan dalam pengukuran stabilitas agar suhu dapat terjaga. Lokasi di Laboratorium Instrumentasi dan Pengukuran Jurusan Fisika.
- Pencacah frekuensi, Hamag: Perangkat ini mampu dipergunakan untuk mengukur frekuensi listrik sampai dengan frekuensi 100MHz dengan ketelitian sampai dengan 0.01Hz. Lokasi di Laboratorium Instrumentasi dan Pengukuran Jurusan Fisika.
- Protomat PCB Prototyping : Alat otomatis (robotic) untuk membuat Papan rangkaian Tercetak dengan Ketelitian tinggi, Lokasi di Laboratorium Instrumentasi dan Pengukuran Jurusan Fisika.
- Vacuum evaporation chamber Perangkat vacuum mini untuk pelapisan dengan evaporasi. Lokasi di Laboratorium Material, Jurusan Fisika.
- Cool storage : Kemampuan untuk menyimpan bahan-bahan biokimia pada suhu dingin sehingga dapat memiliki waktu hidup lebih lama. Lokasi di Laboratorium Biokimia Jurusan Kimia.
- FTIR : Peralatan untuk dapat dipergunakan melakukan karakterisasi bahan dan lapisan. Lokasi di Laboratorium Material Jurusan Fisika.

### Peralatan Tambahan:

- Workshop elektronika dan mekanik, di Fakultas MIPA untuk dipergunakan dalam mengerjakan konstruksi mekanik dan pengerjaan elektronik
- Laboratorium computer dengan akses jaringan 24 jam. Lokasi di Laboratorium Komputasi Jurusan Fisika.



## TENAGA PENELITIAN

No.	Nama dan Gelar	Keahlian	Institusi	Tugas
1.	Dr.-Ing. <b>Setyawan P. Sakti</b> , M.Eng	Instrumentasi	Jurusan Fisika, Univ. Brawijaya	Ketua
2.	Prof. <b>Dr. drh. Aulaniam, DES</b>	Biokimia	Jurusan Kimia, Univ. Brawijaya	Anggota
3.	Ir. D.J. Santjojo, M.Phil., Ph.D.	Fisika Material	Jurusan Fisika, Univ. Brawijaya	Anggota

1. Peneliti Utama Bertugas untuk melakukan koordinasi penelitian; Melakukan disain rancang bangun system osilator dan pencacah ; melakukan disain sensor; dan melakukan karakterisasi sifat elektrik bahan
2. Peneliti Anggota 1: Bertugas untuk mempersiapkan bahan-bahan biomolekul; melakukan immobilisasi; dan melakukan perbandingan dengan metode standar yang ada (ELISA)
3. Peneliti Anggota 2: Bertugas dalam teknologi pelapisan dan analisis sifat fisis bahan pelapisan; Mengembangkan modifikasi permukaan sensor.

## Teknisi:

- Teknisi 1: Bertugas membantu dalam pengerjaan penyolderan; persiapan pengukuran; pengambilan data sifat kelistrikan sensor
- Teknisi 2: Bertugas membantu dalam penyiapan bahan-bahan biomolekul dan pekerjaan-pekerjaan preparasi immobilisasi dan reaksi imunologi
- Teknisi 3 Bertugas membantu dalam masalah pelapisan dan analisis sifat bahan

## Teknisi Pendukung

No	Nama	Kualifikasi	Tugas
1	Dyah Kinasih Wuragil, S.Si., M.P., M.Sc.	Magister Biokimia	Biokimia, Teknisi 2
2	Murti Adi Widodo	Laboran Elektronika	Elektronik, Teknisi 1
3	Puji Sulistyo	Laboran Material	Mekanik & Material Teknisi 3



Brawijaya University, Malang, Indonesia  
Faculty of Mathematics and Natural Sciences

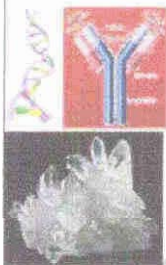
## Effect of polystyrene coating in Disposable QCM Sensor Performance and its Affectivity for BSA Immobilization

Setyawan P. Sakdi

D.J. Djoko H. Santjojo

Aulanni'am

Silvia N. Saputri



AsiaSense2011 – Jeju – 23-26 Oct 2011

## Motivation of the Research

### ❖ Problems

- ❖ Commercial crystal has silver electrode (easy to oxidized), need to be coated
- ❖ How to improve the immobilisation of biomolecule on the QCM surface
- ❖ Polystyrene coating need to be carefully done on top of the QCM sensor to avoid any damping effect

### ❖ Aims

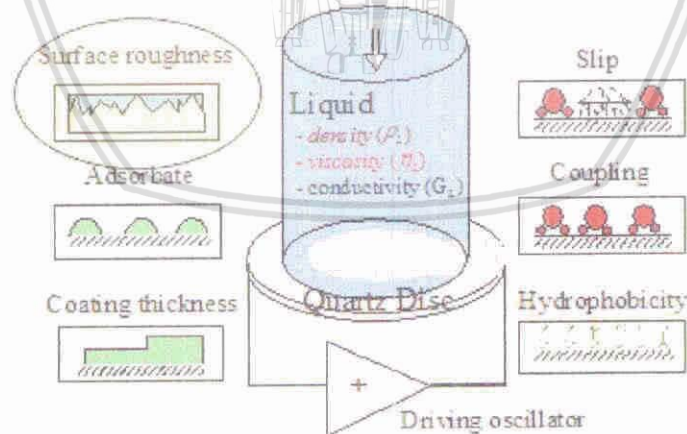
- ❖ Improving biomolecule immobilization through surface modification



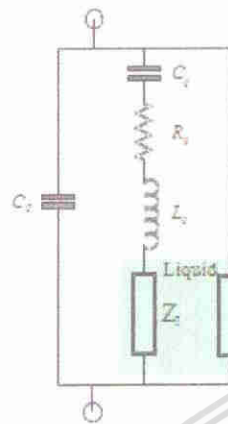
## Current QCM surface for Biosensor Application

- ❖ Single layer of biomolecule
  - ❖ Gold surface without coating
  - ❖ Monolayer coating through LB deposition
  - ❖ Thin layer through silanization or chemically modification surface
  - ❖ Smooth polystyrene coating using spin coating
- ❖ QCM is mass density per surface area

## Factors Affecting QCM for Liquid Application



## Equations Describing the TSM-Sensor



### Quartz Loading

$$\Delta f = -f_0 \frac{\text{Im}(Z_L)}{\pi Z_q} \quad \Delta R = 2\pi f_0 L_q \frac{\text{Re}(Z_L)}{\pi Z_q}$$

$$\Delta f = -f_0^2 \sqrt{\frac{\rho \eta}{\pi \rho_s \mu_s}}$$

$$\Delta R = \frac{\pi}{8K^2 C_q} \sqrt{\frac{\rho \eta}{\pi f_0 \rho_s \mu_s}}$$

## Acoustic Load

### Coating

$$Z_L = j\sqrt{\rho G} \tan\left(2\pi f \sqrt{\frac{\rho}{G}} d\right)$$

### Viscoelastic

### Rigid

$$\begin{aligned} \text{Re}(Z_L) \neq 0, & \rightarrow \Delta R \neq 0 & \text{Re}(Z_L) = 0, & \rightarrow \Delta R = 0 \\ \text{Im}(Z_L) \neq 0, & \rightarrow \Delta f \neq 0 & \Delta m \approx \Delta f & \end{aligned}$$

### Liquid

$$Z_L = (1+j) \sqrt{\frac{\rho \eta}{2}} \omega_0$$

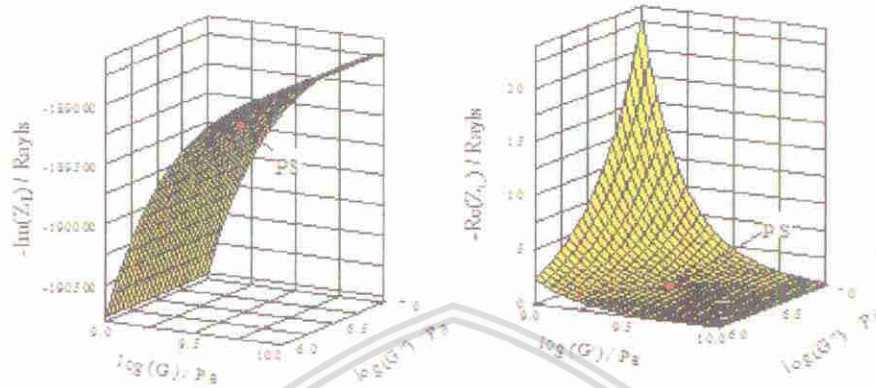
$$\Delta f = -f_0^2 \sqrt{\frac{\rho \eta}{\pi \rho_s \mu_s}}$$

$$\Delta R = \frac{\pi}{8K^2 C_q} \sqrt{\frac{\rho \eta}{\pi f_0 \rho_s \mu_s}}$$

$$\begin{aligned} \Delta f &= -f_0 \frac{\text{Im}(Z_L)}{\pi Z_q} \\ \Delta R &= 2\omega_0 L_q \frac{\text{Re}(Z_L)}{\pi Z_q} \end{aligned}$$



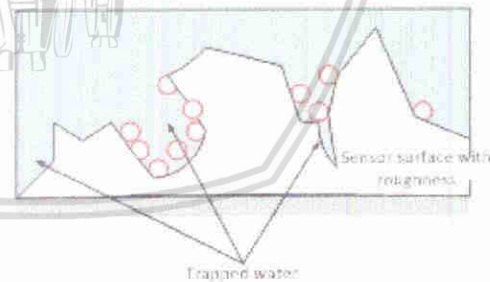
## Loading and Damping of PS on QCM



With high shear moduli the polystyrene coating doesn't introduced any significant load

## Improvement Surface Mass density by Surface Roughness

- Damping not only in liquid media due to trapped liquid
- Increasing surface mass density due to increasing surface area



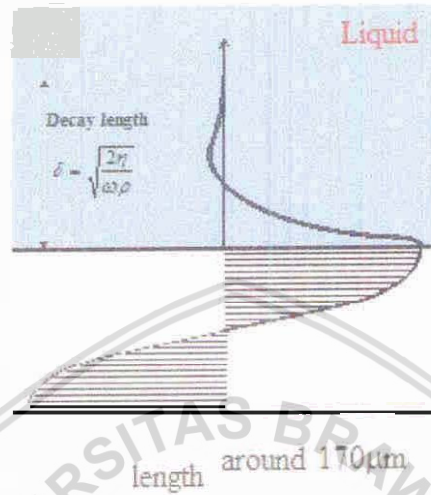
"Stacked biomolecule"

VS

Single layer biomolecule per surface area

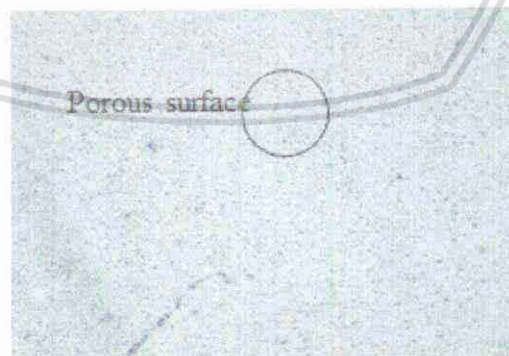


## Decay length of the acoustic wave

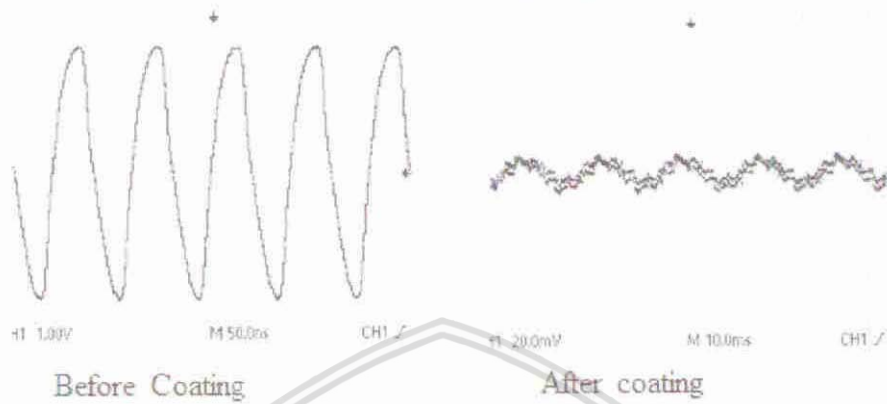


## Coating thickness & method

- Polystyrene solution in chloroform
- Air brush & spin coating
- Thickness ~ 1.5µm – 2µm

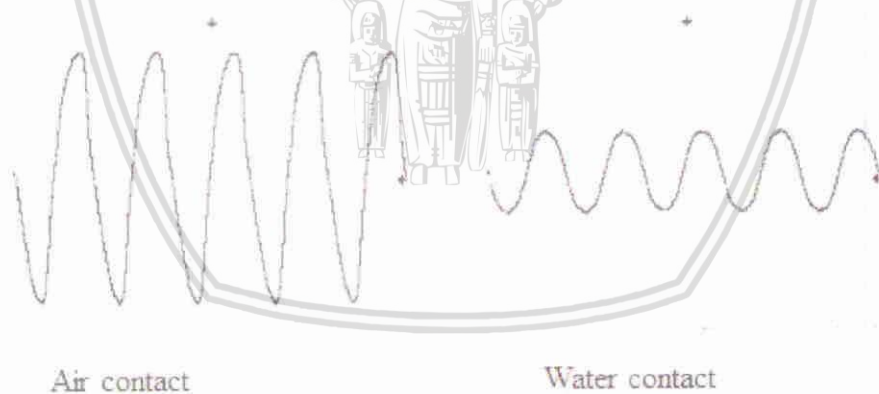


## Oscillator output caused by extreme roughness and porous coating

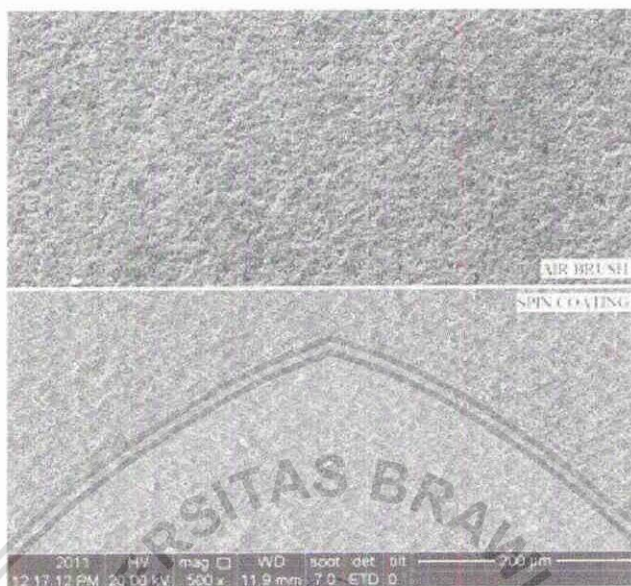


In addition to the shear moduli, geometry and porosity of the coating is also affect the damping

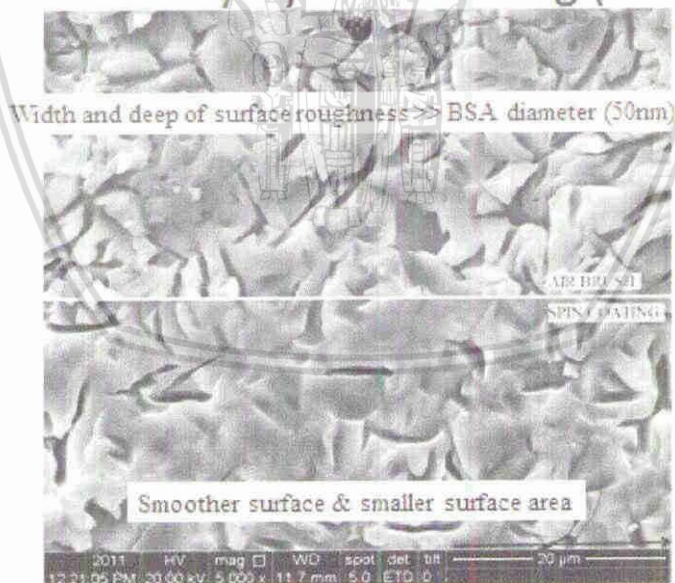
## Optimized air brush coating



## Surface of Polystyrene Coating (500x)



## Surface of Polystyrene Coating (5000x)



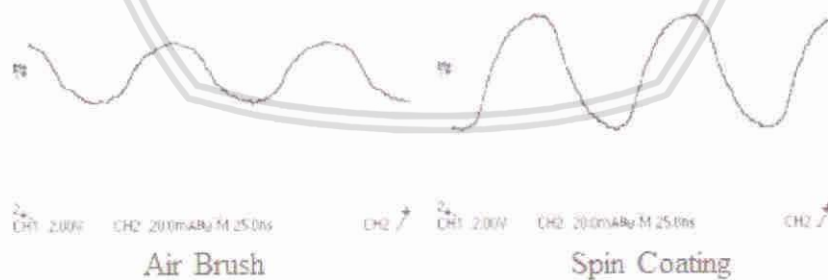


## Spin Coating vs Air Brush

- Spin coating
  - Dense layer
  - Smoother surface
    - Small liquid entrapment
- Air brush
  - Less compact layer
  - Porous layer
    - More liquid trapped in the porosity resulted in a higher load

## Electrical Signal in contact with water

Contribution of trapped water resulted in higher damping on the QCM

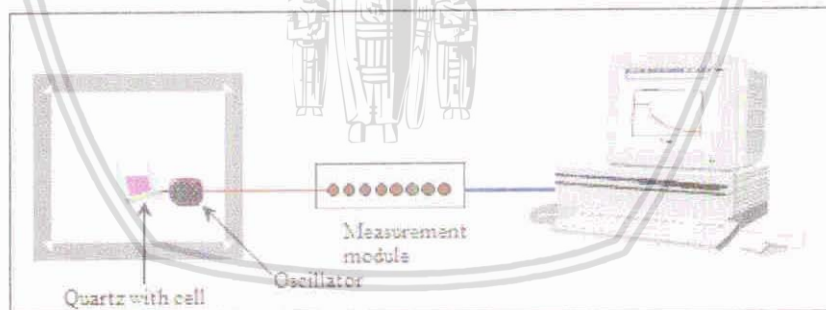


## Experimental Method

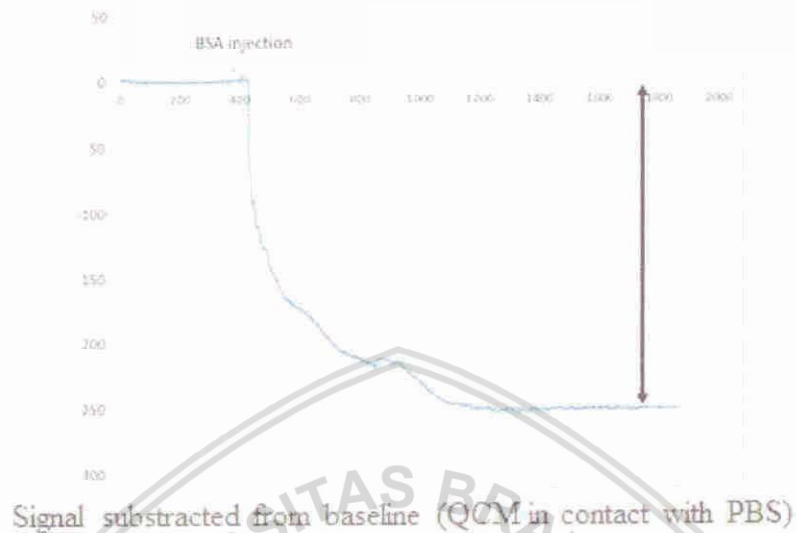
- Material
  - PBS
  - BSA from Sigma Aldrich
  - Crystal resonator (10Mhz)
- Method
  - Non flow cell
  - 70 uL PBS was added to the compartment (top of the sensor)
  - 30 uL BSA in PBS is injected (one time) on the compartment
- Sequence
  - Add 70uL PBS in the reaction cell
  - Wait until stable frequency is reached
  - Add 30uL of BSA concentration in PBS



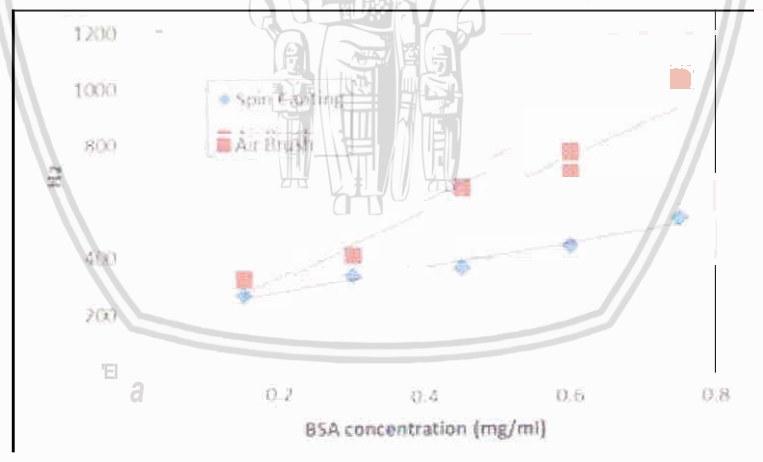
## Measurement System



## Immobilization curve



## BSA Immobilization



100uL BSA in each concentration

## Conclusion

- Roughness and porosity of the coating need to be controlled to avoid loading effect to the QCM
- Surface roughness of the coating layer affect the immobilization of biomolecule
- Surface mass density of immobilized biomolecule (BSA) on higher surface roughness surface is increased

